

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-087711

(43)Date of publication of application : 07.04.1998

(51)Int.Cl.

C08F 2/44
A61K 47/30
C08F 2/14
C09C 1/24
C09C 3/10
C12N 11/00
H01F 1/00

(21)Application number : 08-269359

(71)Applicant : JAPAN SYNTHETIC RUBBER CO LTD

(22)Date of filing : 19.09.1996

(72)Inventor : KASAI KIYOSHI
HATTORI MASAYUKI

(54) PRODUCTION OF MAGNETIC POLYMER PARTICLE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a magnetic polymer particle which contains a magnetic substance and has carboxyl groups increased on the surfaces by suspension polymerization, by mixing a radically polymerizable vinyl monomer with a magnetic substance.

SOLUTION: This polymer particle is obtained by mixing (A) 100 pts.wt. of radically polymerizable monomers containing 1-20wt.% of an unsaturated carboxylic acid [for example, (meth)acrylic acid] and (B) 5-200 pts.wt. of a magnetic substance (for example, Fe₃O₄), dispersing them in water and polymerizing them with (C) an oil-soluble polymerization initiator (for example, benzoyl peroxide) and treating the formed particle with an organic base such as an amine and/or a water-soluble solvent such as acetone.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 29.10.2002

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3743072

[Date of registration] 25.11.2005

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-87711

(43) 公開日 平成10年(1998) 4月7日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	F I	
C 0 8 F 2/44		C 0 8 F 2/44	A
A 6 1 K 47/30		A 6 1 K 47/30	B
C 0 8 F 2/14		C 0 8 F 2/14	
C 0 9 C 1/24		C 0 9 C 1/24	
	3/10	3/10	
審査請求 未請求 請求項の数 1 F D (全 5 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願平8-269359

(22) 出願日 平成8年(1996) 9月19日

(71) 出願人 000004178

ジェイエスアール株式会社

東京都中央区築地2丁目11番24号

(72) 発明者 笠井 澄

東京都中央区築地二丁目11番24号 日本合
成ゴム株式会社内

(72) 発明者 服部 雅幸

東京都中央区築地二丁目11番24号 日本合
成ゴム株式会社内

(54) 【発明の名称】 磁性ポリマー粒子の製造方法

(57) 【要約】

【目的】 粒子の表面に有用なカルボキシル基が多く存在し、表面荷電量が大きい磁性ポリマー粒子を得る。

【構成】 不飽和カルボン酸1～20重量%を含むラジカル重合性ビニル単量体100重量部と磁性体5～200重量部を混合し、水中に分散した後、油溶性開始剤で重合して得られる粒子を、有機性塩基およびまたは水溶性溶剤で処理することを特徴とする磁性ポリマー粒子の製造方法。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 不飽和カルボン酸1～20重量%を含むラジカル重合性ビニル単量体100重量部と磁性体5～200重量部を混合し、水中に分散した後、油性開始剤で重合して得られる粒子を、有機性塩基およびまたは水溶性溶剤で処理することを特徴とする磁性ポリマー粒子の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、磁性ポリマー粒子に関し、さらに詳しくは、診断薬担体、細菌分離単体、細胞培養担体、核酸分離精製担体、蛋白分離精製担体、固定化酵素担体、ドラッグデリバリー担体、磁性トナー、磁性インク、磁性塗料などに有用な磁性ポリマー粒子であって、粒子の表面に有用なカルボキシル基が多く存在し、表面荷電量が大きい粒子に関する。

【0002】

【従来の技術】磁性体含有ポリマー粒子は、磁力により容易に捕集される特性に着目され、主に医学・生化学分野において、診断薬担体、細菌あるいは細胞分離担体、核酸あるいは蛋白分離・精製担体、ドラッグデリバリー担体、酵素反応担体、細胞培養担体等としての優れた実効作用が期待されている。磁性体含有ポリマー粒子の合成法として、従来知られている代表的な方法を挙げると、次のようなものがある。まず、磁性体がポリマー粒子内部に存在するタイプについては、親油化処理した磁性体を重合性モノマー中に分散し、これを懸濁重合する方法（特開昭59-221302号公報参照）、同じく親油化処理した磁性体を重合性モノマー中に分散し、ホモジナイザーで水中に均質化して重合することにより、比較的小粒子径の磁性粒子を得る方法（特公平4-3088号公報参照）、あるいは特定の官能基を有する多孔ポリマー粒子の存在下で、鉄化合物を析出させたのち酸化することにより、多孔ポリマー粒子内部に磁性体を入り込ませ、大粒径かつ均一径の磁性粒子を得る方法（特公平5-10808号公報参照）等が知られている。一方、磁性体がポリマー粒子表面に存在するタイプについては、ポリマー粒子エマルジョン中で鉄化合物を析出させたのち、ポリマー粒子表面をフェライト化する方法（特開平3-115862号公報あるいは特開平5-138009号公報参照）が知られている。しかしながら、これら従来の合成法により得られた磁性体含有ポリマー粒子を診断薬担体等に用いると、磁性体が表面に存在するタイプの粒子では磁性体の強い悪影響が現れた。また、磁性体がポリマー粒子内部に存在するタイプの粒子の場合でも、感度が大幅に低下したり、非特異的反応を示したりして、十分な実用性能が得られなかった。これは、従来の非磁性の乳化重合による粒子と比べて、懸濁重合で合成された磁性体粒子の表面に抗体が吸着あるいは化学結合するためのカルボキシル基が少ないためと

考えられた。非磁性のポリマー粒子の合成においては、同一のモノマー組成、同一粒径であっても、懸濁重合での粒子は乳化重合による粒子より大幅に表面荷電量が少ない。これは、乳化重合は重合初期にミセルから形成された微小粒子や水中の水溶性オリゴマーが集合して核になってモノマーを吸収して肥大化するという粒子形成機構であるため、親水性の高い成分が粒子の表面に集合するのに対し、懸濁重合では基本的には当初のモノマー滴がそのまま重合して粒子になるとの機構であるためカルボキシル基が粒子内部に存在する量が多いためとされる。一方、磁性粒子を乳化重合で合成することが知られている（特公平3-57921）。しかし、この乳化重合による粒子は小粒径に限られ、磁気沈降が容易にできる1μm程度以上の粒子径を得ることはきわめて困難である。このように、従来の方法は、大粒径で、表面荷電量の高い磁性粒子を容易に合成することができなかった。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、このような従来の問題点を解決すべき鋭意検討した結果なされたものであり、その課題は、粒子内部に磁性体を含むタイプで懸濁重合による磁性粒子の表面のカルボキシル基を増加させることにある。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明は、不飽和カルボン酸1～20重量%を含むラジカル重合性ビニル単量体100重量部と磁性体5～200重量部を混合し、水中に分散した後、油性開始剤で重合して得られる粒子を、有機性塩基およびまたは水溶性溶剤で処理することを特徴とする磁性ポリマー粒子の製造方法を提供するものである。

【0005】以下、本発明を詳細に説明する。本発明で使用するラジカル重合性ビニル単量体としては、例えば、（メタ）アクリル酸、イタコン酸、フマル酸、クロトン酸等の不飽和カルボン酸；スチレン、 α -メチルスチレン、*o*-ビニルトルエン、*m*-ビニルトルエン、*p*-ビニルトルエン、ジビニルベンゼン等の芳香族ビニル化合物；メチル（メタ）アクリレート、エチル（メタ）アクリレート、*n*-プロピル（メタ）アクリレート、*i*-プロピル（メタ）アクリレート、*n*-ブチル（メタ）アクリレート、*t*-ブチル（メタ）アクリレート、*n*-ヘキシル（メタ）アクリレート、2-エチルヘキシル（メタ）アクリレート、シクロヘキシル（メタ）アクリレート、（ポリ）エチレングリコールジ（メタ）アクリレート、（ポリ）プロピレングリコールジ（メタ）アクリレート、トリメチロールプロパントリ（メタ）アクリレート等の（メタ）アクリレート；（メタ）アクリロニトリル、シアン化ビニルデン等のシアン化ビニル化合物；塩化ビニル、塩化ビニリデン、ふっ化ビニル、ふっ化ビニリデン、テトラフルオロエチレン等のハロゲン化

ビニル化合物；等を挙げることができる。本発明において、ラジカル重合性ビニル系単量体の1～20重量%、好ましくは2～10重量%は、不飽和カルボン酸である。不飽和カルボン酸が1重量%より少ないと、本発明での処理を行っても十分な表面荷電量が得られず、また、20重量%より多いと、重合時の安定性が劣悪になるとともに粒子の親水性が強くなりすぎ、診断薬での抗体吸着性が悪くなる。ラジカル重合性ビニル系単量体のうち、不飽和カルボン酸と共重合させる他の単量体としては、芳香族ビニル化合物および(メタ)アクリレートが好ましい。(メタ)アクリレートのうち、好ましいものとしては、メチルメタクリレート、シクロヘキシルメタクリレート、フェニルメタクリレートなどが挙げられる。不飽和カルボン酸および不飽和カルボン酸以外のラジカル重合性ビニル系単量体は、単独または2種以上を混合して使用することができる。

【0006】本発明で使用する磁性体としては、酸化鉄系磁性体が好ましいが、他の金属成分を使用することもできる。前記酸化鉄系磁性体としては、例えば Fe_3O_4 、 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 、 MnZn フェライト、 NiZn フェライト、 YFe ガーネット、 GaFe ガーネット、 Ba フェライト、 Sr フェライト、窒化鉄等を挙げることができる。磁性体の粒子径は小さいほど、ポリマー粒子内部に均一に分散しやすい点から好ましく、特に粒子径が20nm以下の超常磁性磁性体が好ましい。これら磁性体は、上記のラジカル重合性ビニル系単量体の一部または全部に分散して使用する。本願発明の磁性体は、カップリング剤、石ケンなどの親油化処理剤で処理し、磁性体表面を油性化することが好ましい。具体的には油性の磁性流体から取り出した磁性体が良好に使用できる。本発明において、磁性体の使用量はラジカル重合性ビニル系単量体100重量部に対し、5～200重量部、好ましくは10～100重量部である。磁性体の使用量が5重量部より少ないと、得られる磁性ポリマー粒子の磁性が小さく、磁性ポリマー粒子として機能を果たさない。一方、200重量部より多いと磁性ポリマー粒子表面への磁性体の露出が避けられず、診断薬担体では露出した磁性体による悪影響が生じる。

【0007】本発明において磁性ポリマー粒子は、磁性体を分散したラジカル重合性ビニル系単量体に油溶性重合開始剤を添加し、これらを水中に分散して重合を行うことにより製造する。磁性体を分散したラジカル重合性ビニル系単量体を分散するには、ホモキサー、コロイドミル、高圧ホモジナイザー、超音波ホモジナイザーなどが使用できる。本発明において、油溶性開始剤としては通常のもので使用でき、ベンゾイルペルオキシド、アゾビスイソブチロニトリル、ラウリルペルオキシドなどが挙げられる。その使用量も通常量で良く、重合条件、開始剤によって異なるが、ラジカル重合性ビニル単量体に対し、通常1～5重量%である。本発明においては、

重合安定剤として、アニオン系界面活性剤、ノニオン系界面活性剤、水溶性高分子、無機系懸濁保護剤などが使用できる。これらのうち、幅広い粒子径の粒子を得ることができ、正負いずれの表面荷電の粒子も合成できるという点から部分ケン化ポリビニルアルコールが良好に使用できる。重合安定剤の使用量も通常量であり、一般に界面活性剤では水に対し通常0.001～1重量%程度、水溶性高分子、無機系懸濁保護剤では水に対し通常0.1から5重量%程度である。重合温度と時間には特に制限はなく、使用するモノマー、重合開始剤に合わせて定められる。通常は重合温度50～100℃、重合時間2～10時間である。

【0008】本発明では、上記のように重合して得られた磁性ポリマー粒子を、さらに有機性塩基及びまたは水溶性溶剤で処理する。本発明において有機性塩基とは、アンモニアおよび、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、ジメチルアミン、ジエチルアミン、トリメチルアミン等の有機アミン化合物である。本発明において、水酸化ナトリウム、水酸化カリウムなどの無機系の固定塩基では、磁性ポリマー粒子内部への浸透性が不足し、本発明の効果が無い。本発明において水溶性溶剤とは、水に溶解し、かつポリマーに親和性を有する有機溶剤であり、具体例としては、アセトン、メルカプトエタノール、エリトリール、ジチオエリトリール、酢酸エチル、ブチルカルビトールアセテート、フェニルセロソルブなどが挙げられる。ここで、有機溶剤の水への溶解度が25℃において1重量%以下であると本発明の効果が期待できない。本発明においては、磁性ポリマー粒子の水系分散液に有機性塩基および/または水溶性溶剤を添加して処理を行う。本発明において、有機性塩基の使用量は、通常、磁性ポリマー粒子の水系分散液の0.1～20容量%、水溶性溶剤の使用料は、通常、磁性ポリマー粒子の水系分散液の1～95容量%である。この際、磁性ポリマー粒子の水系分散液のpHはpH9以上である必要があり、好ましくはpH11以上である。処理温度にはとくに制限はないが、50℃～80℃程度に加温することが好ましい。処理時間には制限はないが、通常1～40時間である。処理の際の磁性ポリマー粒子の濃度は特に制限はないが、通常、0.1～20重量%である。処理時間中に磁性ポリマー粒子が沈降する場合は、適度の攪拌を行うことが好ましい。

【0009】本発明のように、有機性塩基および/または水系分散液で処理を行うことにより、磁性ポリマー粒子の表面荷電量が大幅に増大する。具体的には、表面荷電量は、カルボキシル基変性粒子として実用上問題なく使用できる値である0.05ミリ当量/g程度以上になる。本発明での表面荷電量は、電導度滴定で磁性ポリマー粒子の表面に存在する酸を測定して得られる値であり、ミリ当量/g (磁性ポリマー粒子1g当たりの粒子表面に存

在するカルボキシル基のミリ当量数)で表す。この測定法が記載されている文献としては次のものが例示できる。

J. Colloid Interface Sci., Vol. 176 No. 2 P. 362-369 (1995)

本発明の方法で得られた磁性ポリマー粒子は、診断薬担体、細菌分離単体、細胞培養担体、核酸分離精製担体、蛋白分離精製担体、固定化酵素担体、ドラッグデリバリー担体、磁性トナー、磁性インク、磁性塗料などに使用することができる。

【0010】以下、実施例を挙げて、本発明をさらに具体的に説明する。

【実施例】本実施例において、粒子の平均粒子径、粒子径の範囲、表面荷電量は次のように測定した。

表面荷電量: J. Colloid Interface Sci., Vol. 176 No. 2 P. 362-369 (1995)に記載の方法と同様の条件で測定した。

平均粒子径: 電子顕微鏡で粒子の写真を撮り、無作為に選んだ100個の粒子の粒子径を測定し、平均値を計算した

粒子径の範囲: 電子顕微鏡で粒子の写真を撮り、無作為に選んだ100個の粒子の粒子径を測定し、粒子の粒子径が最大のものから5番目から最小のものから5番目のものまでの範囲で表した

合成例1 (ベース磁性粒子の合成)

ベースの磁性粒子1を下記の懸濁重合法により合成した。市販の油性の磁性流体(タイホー工業■フェリコロイド HC-50)をアセトンに入れて磁性体を沈殿させたのち乾燥して、平均粒径10nmのフェライト系の超常磁性磁性体を得た。この磁性体30gにスチレン70g、アクリル酸ブチル20g、ジビニルベンゼン5g、メタクリル酸5gを加え均一に分散した後、ベンゾイルペルオキシド3gを溶解させた。これをポリビニルアルコール(日本合成化学■ゴーゼン-MGH17)10gを溶解した水1000mlに添加し、超音波分散機で5分間の分散を行い液滴径が0.1~3μmの懸濁液を得た。その後、この懸濁液を窒素雰囲気下、80℃で6時間の重合を行って、重合凝固物量2重量%、重合収率98%でベース磁性粒子1を得た。得られたベース磁性粒子1の粒子径は平均径1.7μm、粒子径の範囲は約0.3~5μm、熱天秤

でのフェライト含量は22.1重量%であった。また、このベース粒子は磁石による磁気沈降性が良好であるが、メタクリル酸を単量体中5重量%と多く使用しているにもかかわらず、表面荷電量は0.002ミリ当量/gと少ないものであった。

合成例2および3

合成例2ではメタクリル酸を1g、スチレンを74g、合成例3ではメタクリル酸を20g、スチレンを55gとするほかは合成例1と同様にして、ベース磁性粒子2、ベース磁性粒子3を得た。ベース磁性粒子2では重合凝固物量2重量%、重合収率97%、平均径1.5μm、表面荷電量0.002ミリ当量/gであった。ベース磁性粒子3は、重合凝固物量23重量%、重合収率98%、平均径3.5μm、表面荷電量0.008ミリ当量/gであった。ベース磁性粒子3は重合安定性が非常に悪く、また、大量にメタクリル酸を使用したにもかかわらず表面荷電量が低いままであった。

【0011】実施例1 (磁性粒子の処理)

合成例1のベース磁性粒子1の水分散液10g(固形分で1g)に1重量%アンモニア水を1g入れ、分散液のpHを12.5とした後、これを密栓して60℃で10時間ゆるく振とうして処理を行った。冷却後、0.5N硫酸で中和してpH7.5とし、磁性ポリマー粒子を4回水で洗浄・再分散し、アンモニア処理による実施例1の磁性粒子を得た。実施例1の粒子は磁性体含量、粒子径、粒子径分布はベース磁性粒子1と変わらないが、表面荷電量は0.125ミリ当量/gと大幅に上昇した。

実施例2~12および比較例1~6

表1に示すベース磁性粒子および処理剤を用いた以外は、実施例1と同様にして磁性ポリマー粒子を得た。これらの処理において、有機性塩基なしで水溶性溶剤のみで処理する場合は、系を0.5Nの水酸化ナトリウムでpH12に調整して行った。これらの表面荷電量の結果を表1に示す。実施例11は表面荷電量の上昇が見られるが、ベース磁性粒子の重合時のカルボン酸基含有単量体が少ないために本発明の処理を行っても表面荷電量の上昇が少なかった。実施例12では表面荷電量が増加したが、処理後の粒子が多孔性になった。

【0012】表1

	ベース 磁性粒子	有機性塩基および水溶性溶剤 の種類	表面荷電 m当量/g
実施例1	1	1重量%アンモニア水1g	0.125
実施例2	1	1重量%アンモニア水1g/アセトン1g	0.101
実施例3	1	5重量%β-ナフトール1g	0.091
実施例4	1	5重量%β-ナフトール1g/ β-メルカプトエタノール1g	0.125
実施例5	1	5重量%エタノールアミン1g	0.082
実施例6	1	5重量%エタノールアミン1g/ ジチオエリトリール1g	0.135
実施例7	1	β-メルカプトエタノール1g	0.072
実施例8	1	アセトン1g	0.055
実施例9	1	β-メルカプトエタノール1g	0.061
実施例10	1	ジチオエリトリール1g	0.072
実施例11	2	1重量%アンモニア水1g/アセトン1g	0.021
実施例12	3	1重量%アンモニア水1g/アセトン1g	0.110
比較例1	1	—	0.006
比較例2	1	1重量%水酸化ナトリウム1g	0.007
比較例3	1	トルエン1g	0.006
比較例4	1	1重量%水酸化ナトリウム1g/ トルエン1g	0.007
比較例5	2	—	0.002
比較例6	3	—	0.008

【0013】応用例

実施例1で得られた磁性ポリマー粒子と、処理前のベース磁性粒子1の診断薬用粒子としての可能性を見るために、アビジンを磁性ポリマー粒子のカルボキシル基と化学結合する操作を行ない、アイソトープでラベルしたビオチンを用いて結合量を評価した。操作は次の様に行った。

〔粒子へのアビジンの化学結合〕磁性ポリマー粒子濃度10重量%の水分散液1mlにアビジン500pmolと1-エチル、3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩100mgを加え、60℃で8時間振とうして、粒子上にアビジンを化学結合させた。その後、磁石で粒子を分離し、1mlの生理食塩水で3回洗浄した。

〔粒子に結合したアビジン量の測定〕アビジンが結合した磁性ポリマー粒子濃度1重量%の粒子分散液100μl×5本に、末端がビオチンで修飾され、もう一方の末端が³²Pでラベルされた合成DNA（塩基数30）をそれぞれ10、100、200、400、800pmolを添加し、反応系の濃度が1.5M/Lになるように5M/LのNaCl水溶液を加え、室温で20分間粒子に結合しているアビジンとビオチンの結合反応をさせた。その後、磁石で磁性ポリマー粒子を分離除去して、磁性*

*ポリマー粒子に結合したビオチンを系から除いた。反応前後のRIカウントから反応したビオチン量を算出し、飽和反応量から磁性ポリマー粒子上に結合されたアビジン量を求めた。同様に、実施例1で得られた磁性ポリマー粒子の代わりに、合成例1で得られたベース磁性粒子を用いた他は、上記と同様にして粒子にアビジンを結合し、アビジン量を測定した。その結果、実施例1の処理前のベース磁性粒子のアビジン結合量は粒子1mg当たり5pmolであったのに対し、本発明の処理を行った実施例1の粒子は粒子1mg当たり250pmolと大幅に増加していた。

【0014】

〔発明の効果〕本発明の磁性粒子は、従来高い表面荷電量の粒子を得ることが困難であった懸濁重合による磁性ポリマー粒子において、重合法を変えずに粒子の後処理によって実用上問題のないレベルまで表面荷電量を上昇させることができた。このため、本発明の磁性粒子は表面が安定かつ親水性で、表面の増強されたカルボキシル基を利用して抗体蛋白、酵素、核酸プローブ、蛍光色素、薬剤など各種の機能物質を結合させることができる。このため、本発明の磁性粒子は生化学および医学関連を含む幅広い技術分野において極めて好適に使用することができる。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁶

C12N 11/00

H01F 1/00

識別記号

FI

C12N 11/00

H01F 1/00

Z